MS 10310030106

COAGULAÇÃO TP

Kit para determinação do Tempo de Protrombina (TP), Método de Quick, em um só estágio.

Kit intended for use in performing the one stage Prothrombin Time (PT), Quick method.

Kit para la determinación del Tiempo de Protrombina (TP), Método de Quick, en una sola etapa.

REF ***730050-C:*** ***50*** *determinações / determinations / determinaciones*
REF ***730060-C:*** ***60*** *determinações / determinations / determinaciones*
REF ***730100-C:*** ***100*** *determinações / determinations / determinaciones*
REF ***730100-1-C:*** ***100*** *determinações / determinations / determinaciones*
REF ***730200-C:*** ***200*** *determinações / determinations / determinaciones*

WAMA Diagnóstica
Rua Aldo Germano Klein, 100 - CEAT
CEP 13560-971 - São Carlos - SP - Brasil
Fone 55 16 3377.9977 / Fax 55 16 3377.9970
www.wamadiagnostica.com.br
EC REP OBELIS SA
Boulevard Général Wahis 53
1030 Brussels, BELGIUM
Phone. +(32) 2732-59 54
Fax : +(32) 2732-60 03
www.obelis.net

CE

PORTUGUÊS

IMPORTÂNCIA CLÍNICA
A finalidade da coagulação sanguínea é formar um coágulo no local da lesão vascular. Além da formação do coágulo, que funciona como um tampão para evitar a hemorragia, esta ação pró-coagulante deve ser restrita ao local da lesão, ou seja, ela não pode disseminar-se pelo sistema circulatório. Assim, no momento em que ocorre a lesão vascular, também se desencadeia a ação do sistema fibrinolítico e dos inibidores fisiológicos da coagulação.
O modelo proposto por Macfarlane e Davie & Ratnoff, em 1964, da "cascata" para explicar a fisiologia da coagulação do sangue, usado ainda hoje por razões didáticas, divide a coagulação em uma via extrínseca e uma via intrínseca que convergem no ponto de ativação do fator X (início da via final ou comum).
O TP avalia a via extrínseca da coagulação, portanto avalia os fatores VII (via extrínseca) e X, V, II e I (via comum).
O TP é o teste de escolha para controle da terapia oral por anticoagulantes cumarínicos, pois a formação do coágulo de fibrina se inicia pelo fator VII, o qual é dependente da vitamina K para ser ativado. Os cumarínicos inibem a síntese da vitamina K e sem ela os fatores II, VII, IX e X não podem ser ativados. É também usado nas rotinas pré-operatórias e em queixas hemorrágicas, onde a deficiência dos fatores mencionados ou presença de inibidores das vias extrínseca e comum pode prolongar o Tempo de Protrombina.
PRINCIPÍO DO MÉTODO
Para que haja a formação de um coágulo de fibrina pela via extrínseca da coagulação é necessária a presença do fator tecidual Tromboplastina, de cálcio e dos fatores de coagulação I, II, V, VII e X. O reagente **COAGULAÇÃO – TP** fornece a Tromboplastina tecidual e cálcio, que especificamente ativam o fator VII iniciando o processo que levará a formação de fibrina pela via extrínseca da coagulação. Assim, quando a mistura de tromboplastina e cálcio é adicionada a um plasma normal citratado o mecanismo de coagulação é iniciado e um coágulo se formará dentro de um período de tempo específico. O grau de prolongamento do TP é proporcional a severidade da deficiência de um ou mais fatores envolvidos nesta via.
APRESENTAÇÃO DO KIT
REF **730050-C - 50 determinações**
1. Reagente - TP: 5 x 2ml
2. Instrução para uso
REF **730100-C - 100 determinações**
1. Reagente - TP: 10 x 2ml
2. Instrução para uso
REF **730200-C - 200 determinações**
1. Reagente - TP: 10 x 4ml
2. Instrução para uso
REF **730060-C - 60 determinações**
1. Reagente - TP: 3 x 4ml
2. Instrução para uso
REF **730100-1-C - 100 determinações**
1. Reagente - TP: 5 x 4ml
2. Instrução para uso
MATERIAL NECESSÁRIO, MAS NÃO FORNECIDO.
- Água purificada
- Tubo
- Pipeta automática
- Banho Maria – 37ºC
- Cronômetro
- Recipiente para descarte de material

PREPARAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES
O reagente **COAGULAÇÃO – TP** da **WAMA Diagnóstica** é uma preparação liofilizada de tromboplastina de cérebro de coelho, cloreto de cálcio, tampão e 0,05% de azida sódica como conservante. O índice de Sensibilidade Internacional (ISI), número de lote e data de vencimento do reagente são mostrados no rótulo do frasco.
PREPARAÇÃO
1. Reconstituir o conteúdo do frasco com o volume de água deionizada especificado em seu rótulo.
2. Recolocar a tampa e gentilmente misturar o conteúdo do frasco até a sua completa dissolução. Deixar em repouso por 15 minutos antes do uso para assegurar sua total hidratação.
ESTABILIDADE
Armazenar entre 2 – 8ºC. Quando fechado e armazenado na temperatura indicada é estável até a data de vencimento impressa no rótulo do frasco.
Uma vez reconstituído é estável por 5 dias quando armazenado entre 2 – 8ºC em seu próprio frasco.
AMOSTRAS
1. Coleta de sangue com seringa: colher sangue venoso com seringa siliconizada ou plástica. Imediatamente após transferir 9 ml de sangue para um tubo contendo 1 ml de citrato de sódio a 3,2% ou 3,8% (pode ser 4,5 de sangue para 0,5 de citrato de sódio, manter sempre a relação de 9 partes de sangue para 1 de citrato de sódio).
2. Coleta de sangue com tubo à vácuo: usar tubo à vácuo contendo citrato de sódio a 3,2% ou 3,8% (tampa azul). Assegurar-se de que o tubo após coleta esteja completo, uma vez que a relação 9 partes de sangue e 1 parte de citrato de sódio é crítica. Recomenda-se que a coleta seja feita usando-se primeiro um tubo sem anticoagulante (tubo seco). No caso da coleta ser somente para testes de coagulação, coletar dois tubos com citrato de sódio e utilizar o segundo tubo para a realização dos testes. Se coletas múltiplas, a amostra para os testes de coagulação deve ser obtida após a coleta de amostra em tubo sem anticoagulante (tubo seco), sempre antes da coleta em tubo contendo EDTA.
3. Preparação do plasma: logo após a coleta misturar gentilmente por inversão o sangue e o anticoagulante, centrifugar por 15 minutos a 2.500 x.g (aproximadamente a 3000 rpm). Se as amostras não forem processadas imediatamente, o plasma deve ser transferido para um tubo plástico. Plasma hemolizado ou contendo mais que 10.000 plaquetas/mm³ ou com hemácias presentes não são recomendados para os testes de coagulação.
4. Armazenagem do plasma: amostras de plasma podem ser armazenadas em temperatura ambiente (18 a 26ºC) por até 2 horas; refrigeradas (2 a 8ºC) por até 4 horas; congeladas (- 20ºC) por até 2 meses ou a -70ºC por até 6 meses. O plasma pode ser recentrifugado previamente ao congelamento para assegurar que todas as células sejam removidas. No momento de testar amostras congeladas, elas devem ser rapidamente descongeladas e os testes realizados imediatamente. As amostras armazenadas não devem entrar em contato com vidro e não incubá-las a 37ºC por mais do que 5 minutos para evitar a perda dos fatores V e VII. A perda do fator V pode prolongar o tempo de protrombina.
PROCEDIMENTO
Este procedimento é para a realização manual dos testes. Para Sistemas Semi-Automáticos ou Automáticos consultar o manual de instruções do equipamento.
1. No momento do uso, quando o reagente TP já estiver reconstituído de acordo com o ítem ''PREPARAÇÃO'', pré-incubar a 37ºC por no mínimo 10 minutos. Manter a suspensão do reagente por agitação magnética ou misturando por inversão antes do uso.
2. Pipetar 100 µl do plasma a ser testado ou do plasma controle em um tubo plástico. Incubar a 37ºC por 1 minuto.
3. Após esse tempo, pipetar 200µl do reagente TP pré-incubado, disparando simultaneamente o cronômetro.
4. Delicadamente por leve inversão registrar o tempo de coagulação do plasma em segundos.
INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS
CALCULO DOS RESULTADOS
Recomenda-se realizar os testes em duplicata (amostras e controles) e calcular o tempo médio. A diferença entre os resultados das duplicatas deve ser menor do que 5%. Repetir o teste se necessário.
O resultado do Tempo de Protrombina é expresso em números de segundos levados desde a adição do reagente TP até a formação do coágulo de fibrina (ver tabela anexa).
No resultado pode-se incluir o Tempo de Protrombina, o Percentual de Atividade (hoje sem nenhuma importância), a Relação entre o Paciente e um Controle Normal (obtido pela determinação do TP de um plasma ou "pool" de plasma conhecidamente normal) e da Relação Internacional Normalizada ou INR da sigla em inglês "International Normalized Ratio". O INR deve sempre ser informado, especialmente em pacientes submetidos a terapia anticoagulante.
INR - RELAÇÃO INTERNACIONAL NORMALIZADA
É sabido que cada combinação de reagentes e instrumentos (Coagulometros) de diferentes fabricantes torna-se um problema quando se analisam os resultados de diferentes laboratórios. O sistema INR foi desenvolvido num esforço de padronizar os resultados do TP. Assim, o Comitê Internacional de Padronização em Hematologia e o Comitê Internacional de Trombose e Hemostasia estão de acordo na apresentação dos resultados do Tempo de Protrombina como uma relação INR.
O INR é a relação do Tempo de Protrombina entre o paciente e o normal que é ajustada para representar um resultado que deveria ser obtido se um reagente de referência internacional fosse usado para a realização do teste. A fórmula para calcular o INR é:

$$INR = (TP\ do\ paciente) / TP\ médio\ normal)^{ISI}$$

Onde,
TP do paciente = Tempo de Protrombina da amostra analisada.
TP médio normal = é o tempo do plasma normal controle (**Plasma Nível 1 da WAMA Diagnóstica**) ou de um "pool" de plasmas normais de 20 ou mais indivíduos, cujo TP médio é estabelecido pelo próprio laboratório.
ISI = é o Índice de Sensibilidade Internacional fornecido pelo fabricante, é lote específico (verificar valor no rótulo do frasco do reagente TP). O ISI representa a sensibilidade da tromboplastina a mudanças na concentração do fator de coagulação. A WAMA Diagnóstica determina o ISI de suas tromboplastinas por calibração contra uma Preparação Internacional de Referência (IRP 67/40), cujo ISI é igual a 1,0. Portanto, um ISI de 1,0 reflete sensibilidade idêntica ao Reagente de Referência Internacional, ou seja, quanto mais próximo de 1,0 mais sensível é o reagente tromboplastina.
VALORES ESPERADOS
Os resultados do Tempo de Protrombina são influenciados pelo método de detecção do coágulo de fibrina e pode variar de laboratório para laboratório. Em geral, testes para TP com plasmas normais apresentarão tempos de formação do coágulo que variam de 13 a 15 segundos quando realizados em um Coagulometro com detecção fotométrica, de 11 a 15 segundos em um Coagulometro de detecção mecânica e entre 12 a 15 segundos se usado o método manual. No entanto, cada laboratório deveria estabelecer uma faixa normal usando indivíduos de sua população de pacientes. Se ocorrer mudanças no método usado (manual ou automático), técnica de coleta de sangue ou anticoagulante usado, uma nova faixa normal deveria ser estabelecida. A média normal do TP deve ser restabelecida sempre que ocorrer mudança no lote do mesmo reagente.
Faixas terapêuticas para monitoração de terapia com anticoagulante oral podem variar de laboratório para laboratório. Assim, é recomendado que cada laboratório estabeleça as faixas de TP relevantes para sua respectiva população de pacientes. A relação TP Paciente/TP Normal deve ser menor que 1,3; valores iguais ou superiores significam prolongamento do Tempo de Protrombina.
Resultados anormais obtidos com um plasma de um paciente que não faz uso de terapia com anticoagulante pode indicar uma deficiência de um ou mais fatores da via extrínseca ou comum da coagulação, ou da presença de um inibidor de algum dos fatores destas vias. O resultado também pode ser devido a certas drogas e medicamentos. Procedimentos adicionais tais como a determinação do TTPA (Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado) e estudos utilizando plasmas deficientes de fatores são usualmente necessários.
CONTROLE DE QUALIDADE
A confiabilidade do teste deve ser monitorada dentro de cada rotina usando plasmas controles normais e anormais, tais como os **Plasma Controle Nível 1 (COD 733001-C)**, **Plasma Controle Nível 2 (COD 733002-C)** e **Plasma Controle Nível 3 (COD 733003-C)** da **WAMA Diagnóstica**. Cada laboratório deveria estabelecer uma faixa controle para determinar a variação permitida na performance diária de cada plasma controle.
CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO
Precisão: a precisão dentro da rotina foi avaliada usando os **Plasmas Controles Níveis 1, 2 e 3 da WAMA Diagnóstica**, usando um instrumento com detecção ótica e outro com detecção mecânica. Os resultados são mostrados na tabela abaixo.
Resultados da Precisão dentro da Rotina

Amostras	MLA Electra 900C (óptico)	Fibrometer (mecânico)
Nível 1	1,00%	1,07%
Nível 2	0,31%	1,48%
Nível 3	0,36%	1,08%

Correlação: estudos de correlação foram realizados contra o reagente TP de um competidor usando o Coagulometro MLA Electra 900C. Os resultados são mostrados abaixo.
Resultados da Correlação

Coeficiente de Regressão	Inclinação	Intercepção
0,91	1,01	0,01

Sensibilidade: em um estudo comparativo com outro reagente do mercado o reagente TP mostrou sensibilidade de 100%.
LIMITAÇÕES DO MÉTODO
1. Resultados discrepantes podem ser prevenidos assegurando-se de que a relação entre sangue e anticoagulante é de 9:1.
2. Amostras lipêmicas, ictéricas e hemolisadas podem produzir erros na determinação do TP.
3. Atraso na realização do teste, dificuldade na coleta da amostra e venopunção próxima do local de aplicação de terapia com heparina podem determinar resultados falsamente prolongados de TP.
4. Os resultados do TP podem ser prolongados por substâncias como corticosteróides, EDTA, contraceptivos orais, asparaginase, clofibrate, eritromicina, etanol, tetraciclina e anticoagulantes como heparina e cumarínicos, ou podem ser diminuídos por uso de anti-histamínicos, cafeína, contraceptivos orais, fenobarbital e vitamina K.
PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS
1. Somente para diagnóstico *in vitro*. Não usar após data de validade.
2. Após aberto e reconstituído manter sob refrigeração(2 – 8ºC) e utilizar até 5 dias.
3. Ler cuidadosamente as instruções de uso antes de realizar o teste.
4. Não ingerir. Evitar contato com a pele e com os olhos.
5. Não comer, beber ou fumar no local onde a amostra ou os kits são manuseados.
6. Manusear todas as amostras como se tivessem agentes infecciosos como também seguir as precauções contra os riscos microbiológicos.
7. Usar jaleco, luvas ou proteção nos olhos no manuseio das amostras.
8. Descarte o material de acordo com a regulamentação local.
9. Utilizar as Boas Práticas de Laboratório (BPLs) na conservação, manuseio e descarte dos materiais.
TERMO DE GARANTIA
A WAMA Diagnóstica garante a troca deste conjunto diagnóstico, desde que o mesmo esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado por sua Assessoria Técnica que não houve falhas na execução, manuseio e conservação deste produto. A WAMA e seus distribuidores não se responsabilizam por falhas no desempenho do kit sob essas condições.

ENGLISH

SUMMARY
The aim of blood coagulation is form a clot in the vascular lesion region. Besides the formation of this clot, which acts as a blocker to avoid hemorraghia, this pro-coagulant action should be restrict to the lesion region, that is, it cannot be widespread in the circulatory system. Thus, the moment that occurs the vascular lesion, it also starts the fibrinolytic system action and coagulation physiological inhibitors.
The "cascade" model, proposed for Macfarlane and David & Ratnoff, in 1964, in order to explain the blood coagulation physiology, still used today for didactic reasons, divide the coagulation in extrinsic and intrinsic pathways which converge on the activation point of X factor (start of the final pathway or common). PT evaluates the extrinsic coagulation pathway, therefore, evaluates the VII factors (extrinsic pathway) and X, V, II, and I (common pathway). PT is the method of choice for monitoring oral anticoagulation therapy since the formation of fibrin clot starts by Factor VII, which is vitamin K- dependant to be activated. Coumadin inhibit the synthesis of K vitamin and without this vitamin, the Factors II, VII, IX and X cannot be activated. It is also used in the pre-surgery routines and hemorrhagic complaints where the presence of deficiency or inhibitors of extrinsic and common pathways can prolong PT.
PRINCIPLE OF METHOD
The capacity of blood to form a fibrin clot by extrinsic pathway of coagulation requires thromboplastin, calcium, factors I, II, V, VII and X. **COAGULATION – PT** reagent provides a source of tissue thromboplastin and calcium that specifically activate factor VII and initiating the process that will lead to fibrin formation by extrinsic pathway of coagulation. Thus, when the mixture of thromboplastin and calcium is added to citrated normal plasma, the mechanism of coagulation is initiated and a clot will be formed within a specific period of time.
PT level of extension is proportional to the severity of the deficiency of one or more factors involved in this pathway.
REAGENT PREPARATION
COAGULATION–PT from **WAMA Diagnóstica** is a lyophilized preparation of rabbit brain, calcium chloride, buffer, and 0.05% sodium azide as a preservative. The International Sensitivity Index (ISI), lot number and expiry date of the reagent are shown on the vial's label.
KIT PRESENTATION
REF **730050-C – 50 Determinations**
1. Reagent - PT: 5 x 2ml
2. Instructions for use
REF **730100-C - 100 Determinations**
1. Reagent - PT: 10 x 2ml
2. Instructions for use
REF **730200-C - 200 Determinations**
1. Reagent - PT: 10 x 4ml
2. Instructions for use
REF **730060-C – 60 Determinations**
1. Reagent - PT: 3 x 4ml
2. Instructions for use
REF **730100-1-C - 100 Determinations**
1. Reagent - PT: 5 x 4ml
2. Instructions for use
MATERIAL NEDDED BUT NOT PROVIDED
- Purified water
- Tube
- Automatic pipette
- Double boiler– 37ºC
- Timer
- Container for material disposal

PREPARATION AND STABILITY
PREPARATION
1. Reconstitute the contents of the vial with the specified volume of purified water.
2. Replace the stopper and thoroughly mix the vial contents. Let stand for 15 minutes prior to use to assure complete hydration.
STABILITY
Store at 2 – 8ºC. When the vial is tightly closed and stored at the recommended temperature, it is stable up to its expiry date shown on the vial's label. Once the reagent is reconstituted, it is stable for 5 days when stored at 2-8ºC in the original vial.
SPECIMEN COLLECTION
1. Blood collection using syringe method: Draw venous blood into a plastic or siliconized syringe. Immediately transfer 9 ml of blood into a tube containing 1 ml of 3.2% or 3.8% sodium citrate solution alternatively (4.5 of blood to 0.5 of sodium citrate, keep the ratio of 9 parts blood to 1 part sodium citrate).
2. Blood collection using an evacuated blood collection tube: Draw venous blood into a vacuum tube containing 3.2% or 3.8% sodium citrate solution (blue cap). Insure that a full draw has been obtained since the ratio of 9 parts blood to 1 part citrate is critical. It is recommended that the collection be performed by using the first tube without anticoagulant (dry tube). In case of collection only for coagulation tests, collect two tubes with sodium citrate and use the second tube for coagulation tests. If multiple collections are needed, the sample for coagulation test should be obtained after the collection in tube without anticoagulant (dry tube), prior to collection in tube containing EDTA.
3. Plasma preparation: Mix well by inversion and centrifuge at 2,500 x g for 15 minutes soon after the blood collection. Unless the samples are to be processed immediately, transfer the plasma into a plastic tube. Plasma that is clearly hemolyzed or contains >10.000 platelets per cubic meter or red cells is not suitable for coagulation testing.
4. Plasma storage: Plasma samples may be stored at room temperature (18 to 26ºC) for up to 2 hours; refrigerated (2 to 8ºC) for up to 4 hours; frozen (- 20ºC) for up to 2 months or at -70ºC for up to 6 months. Plasma may be re-centrifuged prior to freezing to assure that all cells are removed. When testing frozen samples, they should be quickly thawed and tested immediately. The samples must not have any contact with glass. Do not incubate at 37ºC for longer than 5 minutes to avoid the loss of factors V and VII. Loss of factor V can prolong the PT.
PROCEDURE
This procedure is intended to use with manual testing. For semi-automated and automated systems, please refer to your instrument manual.
1. Pre-incubate the reconstituted PT reagent at 37ºC for at least 10 minutes. Maintain the suspension of the reagent by magnetic stirring or mixing by inversion immediately prior to use.
2. Pipette 100 µl of test or plasma control into a test cuvette. Incubate at 37ºC for 1 minute.
3. Rapidly add 200µl of the pre-incubated PT reagent, simultaneously starting the timer.
4. Slightly by inversion record the clotting time in seconds.
CALCULATION OF RESULTS
It is recommended to calculate the mean clotting time of duplicate samples and controls. Differences between duplicate results should be less than 5%. Repeat the test if necessary.
The PT result may be reported in seconds since the adding of the PT reagent up to form a clot (see the table attached).
PT, percent activity, ratio of patient clotting time to mean normal clotting time or International Normalized Ratio (INR) may also be reported in the test result. The INR is recommended for use with patients undergoing anti-coagulation therapy.
INR (INTERNATIONAL NORMALIZED RATIO)
It is largely known that the combination of reagents and instruments (Coagulometers) from different manufacturers may cause problems when the results from different laboratories are recorded. INR system was developed in an effort to standardize the TP results. The International Committee for Standardization in Hematology and the International Committee on Thrombosis and Hemostasis have agreed on recommendations for the reporting of Prothrombin Time results as an International Normalized Ratio (INR).
The INR is the relation of the Prothrombin Time among the patient and the normal time. This normal time is adjusted to represent a result obtained if a standardized reagent were

used to perform the same test.
The INR is calculated using the following formula:

$$INR = (Patient\ PT) / (Mean\ Normal\ TP)^{ISI}$$

Where,
Patient PT= Prothrombin Time from the evaluated sample.
Mean Normal PT = Plasma normal control time (**Plasma Level 1 from WAMA Diagnóstica**) or from a "pool" of normal plasma of 20 or more individuals where the mean PT is determined by the laboratory.
ISI = Lot specific International Sensitivity Index for the reagent (verify its value printed on the vial label). The ISI represents the thromboplastin sensitivity to alterations on the levels of clotting factor. WAMA Diagnóstica determines the ISI value of thromboplastin by calibration against an International Reference Preparation (IRP 67/40) with an assigned ISI of 1.0. Therefore, ISI of 1.0 represents identical sensitivity to International Reference Reagent, that is, ISI close to 1.0; more sensible will be the thromboplastin reagent.

EXPECTED VALUES
PT results are influenced by the method of clot detection and can vary from laboratory to laboratory. In general, PT tests performed with normal plasmas will give clotting times in the range of 13 to 15 seconds on a photo-optical coagulometer, from 11 to 15 seconds if a mechanical coagulometer is used, and between 12 to 15 seconds if the manual method is applied. However, each laboratory should establish a normal range using individuals representative of its patient population. A new range should be established with any change of instrumentation, blood collection techniques, or anticoagulant. A Mean Normal PT range should be reestablished when changing lots of the same reagent.
Therapeutic ranges of INR for monitoring oral anticoagulation therapy is 2.4 to 2.5. Therapeutic ranges for monitoring oral anticoagulation therapy will vary from laboratory to laboratory. Therefore, it is essential that each laboratory establish relevant PT ranges for its respective patient population.
The ratio patient PT/Mean Normal PT should be up to 1.3. Higher values mean a Prothrombin Time prolonged.
Abnormal results obtained with a plasma from a patient not on anticoagulant therapy may indicate a factor deficiency or the presence of an inhibitor. The result may also be due to the effects of certain drugs and medications. Additional procedures such as an APTT and mixing studies using factor deficient plasma are usually required.

QUALITY CONTROL
The test performance should be monitored by using normal and abnormal coagulation control plasmas such as **Control Plasma Level 1 (COD 733001-C)**, **Control Plasma Level 2 (COD 733002-C)** and **Control Plasma Level 3 (COD 733003-C)** from **WAMA Diagnóstica**. Each laboratory should establish control ranges in order to determine the allowed variation on control plasma performance.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS
Precision: Within-run precision was assessed using **Control Plasma Levels 1, 2** and **3** from **WAMA Diagnóstica**, on an optical and a mechanical instrument. The results are shown in the following table.
Within-run Precision Results

Sample	MLA Electra 900C (optical)	Fibrometer (mechanical)
Level 1	1,00%	1,07%
Level 2	0,31%	1,48%
Level 3	0,36%	1,08%

Correlation: Correlation studies were performed against the PT reagent of a competitor on the MLA Electra 900C coagulometer. The results are shown in the following table.
Correlation Results

Regression coeficient	Slope	Intercept
0,91	1,01	0,01

Sensitivity: A Sensitivity study was performed against a PT reagent of a competitor and **Wama Diagnóstica PT reagent** showed 100% of sensitivity.

LIMITATIONS
1. To prevent spurious results ensure the blood to anticoagulant ratio is 9:1.
2. Lipaemic, jaundiced and hemolytic samples can yield errors on TP determination.
3. Delay in test performing, difficulties in blood collection and venipuncture close to the region of heparin therapy application may yield PT clotting times falsely prolonged.
4. PT results can be prolonged by substances such as corticosteroids, EDTA, oral contraceptives, asparaginase, clofibrate, erythromycin, ethanol, tetracycline and anticoagulants such as heparin and coumadin. The PT may be shortned by substances including antihistamines, butabarbital, caffeine, oral contraceptives, phenobarbital and vitamin K.

PRECAUTIONS AND WARNINGS
1. Reagents for in vitro diagnostic use only.
2. Do not use the reagents after the expiration date.
3. Follow the instructions for use prior to testing.
4. The reagents should be well mixed by inversion and sealed immediately after use.
5. The samples and controls to be tested should be used simultaneously in order to maintain the same test conditions.
6. Do not ingest. Avoid skin and eyes contact.
7. Handle all samples as potentially infectious.
8. Disposal in accordance with local regulactions.
9. Use Good Laboratorial Practice at storing, handling and material disposal.

WARRANT
WAMA Diagnóstica reploces this kit since it is not beyound expiratin date. The returned kit must be evaluated by Wama´s techinical support. The warranty will be invalid and kit will not be replace if techinical support finds evidence that running, houdling and storage were not properly fallow ed.

ESPAÑOL

IMPORTANCIA CLÍNICA
La finalidad de la coagulación sanguínea es formar un coágulo en el local de la lesión vascular. Además de la formación del coágulo, que funciona como un tampón para evitar la hemorragia, esta acción pro-coagulante debe ser restringida al local de la lesión, o sea, no puede diseminarse por el sistema circulatorio. Así, en el momento en el que ocurre la lesión vascular, también se desencadena la acción del sistema fibrinolítico y de los inhibidores fisiológicos de la coagulación.
El modelo propuesto por Macfarlane y Davie & Ratnoff, en 1964, de la **"cascada"** para explicar la fisiología de la coagulación de la sangre, usado aun hoy por razones didácticas, divide la coagulación en una vía extrínseca y una vía intrínseca que convergen en el punto de activación del factor X (inicio de la vía final o común).
El TP evalúa la vía extrínseca de la coagulación, consecuentemente evalúa los factores VII (vía extrínseca) y X, V, II y I (vía común).
El TP es el test de elección para control de la terapia oral por anticoagulantes cumarínicos, pues la formación del coágulo de fibrina se inicia por el factor VII, el cual depende de la vitamina K para ser activado. **Los cumarínicos** inhiben la síntesis de la vitamina K y sin ella los factores II, VII, IX y X no pueden ser activados. Es también usado en las rutinas pre-operatorias y en crisis hemorrágicas, donde la presencia de deficiencia o inhibidores de la vía extrínseca y común puede prolongar el Tiempo de Protrombina.

PRINCIPIO DEL MÉTODO
Para que **haya** formación de un coágulo de fibrina por vía extrínseca de la coagulación es necesaria la presencia del factor **tisular Tromboplastina**, de calcio y de los factores de coagulación I, II, V, VII y X. El reactivo **COAGULACIÓN– TP** provee la Tromboplastina tisular y el calcio, que especificamente activan el factor VII iniciando el proceso que llevará la formación de fibrina por vía extrínseca de la coagulación. Así, cuando la mezcla de tromboplastina y calcio es adicionada a un **plasma normal citratado** el mecanismo de coagulación es iniciado y un coágulo se formará dentro de un período de tiempo específico. El grado de prolongación del TP es proporcional a la **gravedad** de la deficiencia de uno o más factores **involucrados** en esta vía.

REACTIVO COAGULACIÓN – TP
El reactivo **COAGULACIÓN – TP** de **WAMA Diagnóstica** es una **preparación liofilizada** de tromboplastina de cerebro de conejo, **cloruro de calcio, tampón** y 0,05% de **azida sódica** como conservante. El Índice de Sensibilidad Internacional (ISI), número de lote y fecha de vencimiento del reactivo son mostrados en el rótulo del frasco.

PRESENTACIÓN DEL KIT
REF 730050-C - 50 determinaciones
1. Reactivo TP : 5 x 2 ml
2. Instrucción de uso
REF 730100-C - 100 determinaciones
3. Reactivo TP : 10 x 2 ml
4. Instrucción de uso
REF 730200-C - 200 determinaciones
1. Reactivo TP : 10 x 4 ml
2. Instrucciones de uso
REF 730060-C - 60 determinaciones
1. Reactivo TP : 3 x 4 ml
2. Instrucción de uso
REF 730100-1-C - 100 determinaciones
3. Reactivo TP : 5 x 4 ml
4. Instrucción de uso

MATERIAL NECESARIO, NO SUMINISTRADO.
- Agua deionizada
- Tubos plásticos para test
- Pipeta automática
- Baño María – 37ºC
- Cronómetro
- Recipiente para descartar material

PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD DEL REACTIVO
PREPARACIÓN
1. Reconstituir el contenido del frasco con el volumen de a**gua deionizada** especificado en su rótulo.
2. Recolocar la tapa y **gentilmente** mezclar el contenido del frasco hasta su completa **disolución**. Dejar en reposo por 15 minutos antes de usar para asegurar su total hidratación.
ESTABILIDAD
Almacenar entre 2 – 8ºC. Es estable hasta la fecha de vencimiento impresa en el rótulo del frasco, siempre que sea cerrado y almacenado a la temperatura indicada.
Una vez reconstituido es estable por 5 días, siempre y cuando sea almacenado entre 2 – 8ºC en su propio frasco.

MUESTRAS
1. Colecta de sangre con jeringa: colectar sangre venosa con jeringa siliconizada o plástica. Inmediatamente transferir 9 ml de sangre para un tubo conteniendo 1 ml de **citrato de sodio** a 3,2% o 3,8% (puede ser 4,5 de sangre para 0,5 de citrato de sodio, mantener siempre la relación de 9 partes de sangre para 1 de citrato de sodio).
2. Colecta de sangre con tubo al vacío: usar tubo al vacío conteniendo citrato de sodio a 3,2% o 3,8% (tapa azul). Asegurarse de que el tubo de colecta está completo, ya que la relación 9 partes de sangre y 1 parte de citrato de sodio es crítica. Se recomienda que la colecta se haga usándose primero un tubo sin anticoagulante (tubo seco). En caso de que la colecta sea solamente para tests de coagulación, colectar dos tubos con citrato de sodio y utilizar el segundo tubo para la realización de los tests. Si las colectas son múltiples, la muestra para los tests de coagulación debe ser obtenida después de la colecta de una muestra en tubo sin anticoagulante (tubo seco), siempre antes de la colecta en tubo conteniendo EDTA.
3. Preparación del plasma: Después de la colecta mezclar gentilmente por inversión la sangre y el anticoagulante, centrifugar por 15 minutos a 2.500xg (cerca de 3000 rpm). Si las muestras no van a ser procesadas inmediatamente, el plasma debe ser transferido para un tubo plástico. Plasmas hemolizados o conteniendo más de 10.000 plaquetas/mm³ o con hematíes presentes no son recomendados para los tests de coagulación.
4. Almacenamiento del plasma: muestras de plasma pueden ser almacenadas a temperatura ambiente (18 a 26ºC) hasta por 2 horas; refrigeradas (2 a 8ºC) hasta por 4 horas; congeladas (- 20ºC) hasta por 2 meses o a -70ºC hasta por 6 meses. El plasma puede ser recentrifugado previamente al congelamiento para asegurar que todas las células sean removidas. En el momento de **testear** muestras congeladas, deben ser rápidamente descongeladas y los tests realizados inmediatamente. Las muestras almacenadas no deben entrar en contacto con vidrio y no deben ser incubadas a 37ºC por más de 5 minutos para evitar la pérdida de los factores V y VII. La pérdida del factor V puede prolongar el tiempo de protrombina.

PROCEDIMIENTO
Este procedimiento es para la realización manual de los tests. Para Sistemas Semi-Automáticos o Automáticos consultar el manual de instrucciones del equipamiento.
1. En el momento del uso, cuando el reagente TP estiver reconstituido de acuerdo con el iten ''Preparación'', preincubarlo a 37ºC por 10 minutos, como mínimo.
2. Pipetar 100 µl del plasma a ser testeado o del plasma control en un tubo plástico. Incubar a 37ºC por 1 minuto.
3. Pasado ese tiempo, pipetar 200 µl del reactivo TP preincubado, disparando simultaneamente el cronómetro.
4. Delicadamente, por leve inversión, registrar el tiempo de coagulación del plasma en segundos.

CÁLCULO DE LOS RESULTADOS
Se recomienda realizar los tests en duplicata (muestras y controles) y calcular el tiempo promedio. La diferencia entre los resultados de las duplicatas deben ser menores que 5%. Repetir el test si se considera necesario.
El resultado del Tiempo de Protrombina es expresado en números de segundos llevados desde la adición del reactivo TP hasta la formación del coágulo de fibrina (vease el cuadro adjuntos).
En el resultado se puede incluir el Tiempo de Protrombina, el Porcentual de Actividad (hoy sin importancia), la Relación entre el Paciente y un Control Normal (obtenido por la determinación del TP de un plasma o "pool" de plasma que se sabe normal) y de la Relación Internacional Normalizada o INR de la sigla en inglés "International Normalized Ratio". El INR debe ser siempre informado, especialmente en pacientes sometidos a terapia anticoagulante.

INR - RELACIÓN INTERNACIONAL NORMALIZADA
Es sabido que la combinación de reactivos e instrumentos (Coagulómetros) de diferentes fabricantes se torna un problema cuando se analizan los resultados de diferentes laboratorios. El sistema INR fue desarrollado en un esfuerzo por padronizar los resultados del TP. Así, el Comité Internacional de Padronización en Hematología y el Comité Internacional de Trombosis y Hemostasia están de acuerdo en la presentación de los resultados del Tiempo de Protrombina como uma relación INR.
El INR es la relación del Tiempo de Protrombina entre el paciente y el normal que es ajustada para representar un resultado que debería ser obtenido si un reactivo de referencia internacional fuese usado para la realización del test. La fórmula para calcular el INR es:

$$INR = (TP\ del\ paciente) / TP\ médio\ normal)^{ISI}$$

Donde,
TP del paciente = Tiempo de Protrombina de la muestra analizada.
TP medio normal = es el tiempo del plasma normal control (**Plasma Nivel 1 de WAMA Diagnóstica**) o de un "pool" de plasmas normales de 20 o más individuos, cuyo TP medio es establecido por el propio laboratorio.
ISI = es el Índice de Sensibilidad Internacional suministrado por el fabricante, es lote específico (verificar valor en el rótulo del frasco del reactivo TP). El ISI representa la sensibilidad de la tromboplastina a cambios en la concentración del factor de coagulación. WAMA Diagnóstica determina el ISI de sus tromboplastinas por calibración contra una Preparación Internacional de Referencia (IRP 67/40), cuyo ISI es igual a 1,0. Por lo tanto, un ISI de 1,0 refleja sensibilidad idéntica al Reactivo de Referencia Internacional, o sea, cuanto más próximo de 1,0 más sensible es el reactivo tromboplastina.

VALORES ESPERADOS
Los resultados del Tiempo de Protrombina son influenciados por el método de detección del coágulo de fibrina y pueden variar de un laboratorio a otro. En general, tests para TP con plasmas normales presentan tiempos de formación del coágulo que varían de 13 a 15 segundos cuando se realizan en un Coagulómetro con detección fotométrica, de 11 a 15 segundos en un Coagulómetro de detección mecánica y entre 12 a 15 segundos mediante el método manual. Sin embargo, cada laboratorio debería establecer un rango normal usando individuos de su población de pacientes. Si ocurren cambios en el método usado (manual o automático), en la técnica de colecta de sangre o en el anticoagulante usado, debería ser establecido un nuevo rango normal. El promedio normal del TP debe ser reestablecido siempre que ocurra algún cambio en el lote del mismo reactivo.
Rangos terapéuticos para monitorear terapias con anticoagulante oral varían de un laboratorio a otro. Por esto, es recomendado que cada laboratorio establezca los rangos de TP relevantes para su respectiva población de pacientes. La relación TP Paciente/TP Normal debe ser menor que 1,3; valores iguales o superiores significan la prolongación del Tiempo de Protrombina.
Resultados anormales obtenidos con un plasma de un paciente que no hace terapia con anticoagulante pueden indicar la deficiencia de uno o más factores de la vía extrínseca o común de la coagulación, o de la presencia de un inhibidor de alguno de los factores de estas vías. El resultado también puede ser debido a ciertas drogas y medicamentos. Procedimientos adicionales tales como la determinación del TTPa (Tiempo de Tromboplastina Parcial activado) y estudios utilizando plasmas deficientes de factores son usualmente necesarios.

CONTROL DE CALIDAD
La confiabilidad del test debería ser monitoreada dentro de cada rutina usando plasmas controles normales y anormales, tales como los **Plasma Control Nivel 1 (COD 733001-C)**, **Plasma Control Nivel 2 (COD 733002-C) y Plasma Control Nivel 3 (COD 733003-C)** de **WAMA Diagnóstica**. Cada laboratorio debería establecer una rango control para determinar la variación permitida en la performance diaria de cada plasma control.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO
Precisión: la precisión dentro de la rutina fue evaluada usando los **Plasmas Controles Niveles 1, 2 y 3 de WAMA Diagnóstica**, usando un instrumento con detección óptica y otro con detección mecánica. Los resultados son mostrados en el siguiente cuadro.
Resultados de la Precisión dentro Intra-Rutina

Muestras	MLA Electra 900C (detección óptica)	Fibrometer (mecánico)
Nível 1	1,00%	1,07%
Nível 2	0,31%	1,48%
Nível 3	0,36%	1,08%

Correlación: estudios de correlación fueron realizados contra el reactivo TP de un competidor usando el Coagulómetro MLA Electra 900C. Los resultados son mostrados abajo.

Resultados de la Correlación

Coeficiente de Regresión	Inclinación	Intercepción
0,91	1,01	0,01

Sensibilidad: en un estudio comparativo con otro reactivo del mercado, el reactivo TP mostró sensibilidad de 100%.

LIMITACIONES DEL MÉTODO
1. Resultados discrepantes pueden ser prevenidos asegurándose de que la relación entre sangre y anticoagulante sea de 9:1.
2. Muestras lipémicas, ictéricas y hemolisadas pueden producir errores en la determinación del TP.
3. Atraso en la realización del test, dificultad en la colecta de la muestra y venopunción próxima al local de aplicación de terapia con heparina pueden determinar resultados falsamente prolongados de TP.
4. Los resultados del TP pueden ser prolongados por sustancias como corticosteroides, EDTA, contraceptivos orales, asparaginasa, clofibrate, eritromicina, etanol, tetraciclina y anticoagulantes como heparina y cumarínicos, pudiendo estar disminuídos por uso de antihistamínicos, cafeína, contraceptivos orales, fenobarbital y vitamina K.

RECAUCIONES Y ADVERTENCIAS
1. Conjunto de reactivos solamente para diagnóstico *in vitro*.
2. No usar después de la fecha de vencimiento.
3. Leer cuidadosamente las instrucciones de uso antes de realizar el test.
4. Los reactivos deben ser homogeneizados levemente por inversión y tapados inmediatamente después del uso.
5. Las muestras testeadas y los controles deben ser utilizados al mismo tiempo para mantener las mismas condiciones del test.
6. No ingerir. Evitar el contacto con la piel y con los ojos.
7. Manipular todas las muestras como si tuvieran agentes infecciosos.
8. Descarte lo material em acuerdo con lãs regulaciones locales.
9. Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) en la conservación, manipulación y descarte de las muestras.

TÉRMINO DE GARANTÍA
La WAMA Diagnostica garantiza el cambio de este conjunto diagnostico si desde el momento que el mismo esté dentro el plazo de caducidad y sea comprobado por su accesoria técnica de que no hubieron fallos en la ejecución, manoseo y conservación de este producto. La WAMA y sus distribuidores no se responsabilizan por los fallos en el desempeño del kit bajo sobre estas condiciones.

BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHY / BIBLIOGRAFÍA

1. Deykin, D, Anticoagulant therapy. In: Colman, R.W., Hirsh, J, Marder, V., Salzman, EW (Eds.); Heamostatis and Thrombosis, JB Lippincott, Philadelphia, 1982, p1000
2. Errichette AM, Holden A, Ansell J; Management of Oral Anticoagulant Therapy: experience with an Anticoagulation Clinic, Arch. Inter. Medicine 144; p1966 (1984)
3. Furie B, Furie BC; Molecular and Cellular Biology of Blood Coagulation, N Eng J Medicine 326;p800 (1992)
4. Hirsh J, Dalen JE, Deykin D., Polter L; Oral Anticoagulants: Mechanisms of Action, Clinical Effectiveness and Optimal Therapeutic Range, Chest 102 (suppl):312S, (1992)
5. Hougie C; The Biochemistry of Blood Coagulation; In Triplett DA, Laboratory Evaluation of Coagulation, American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, p2 (1982)
6. International Committee for Standardization in Haematology and International Committee on Thrombosis and Haemostasis. Amer J Clin Path 88; p779 (1985)
7. Kirkwood T; Calibration of Reference Thromboplastins and Standardization of the Prothrombin Time Ratio, Thromb Haemostasis 49; p238 (1983)
8. Laposala M, Connor A, Hicks D, Phillips D: The Clinical Hemostasis handbook, Year Book Medical Publishers Inc. (1989)
9. Miale JB; Laboratory Medicine-Hematology, 4th edition, CV Mosbe, St Louis, (1972)
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards: One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test, NCCLS Document H47-A (1996)
11. WHO Expert Committee on Biological Standardization, 33 Report. Technical Report Series 687, WHO, Geneva (1983)
12. Young DS, Thomas DW, Friedman RB, et al.; Effect of Drugs in Clinical Tests, Clin Chem 18; p1041 (1972)

SIMBOLOGIA / SIMBOLS / SIMBOLOGIA

I Edição: Rev. 11/2011